

Studi tentang polimorfisme ulat sutera F1 hibrid hasil persilangan ras Jepang dan ras Cina yang berasal dari pusat pembibitan Soppeng dan Temanggung dengan menggunakan enzim restriksi Pst1 dan EcoR1

Nur Cholis

Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya
Jl. Veteran Malang – Jawa Timur

ncholis@ub.ac.id, abumalik.abumalik@gmail.com

ABSTRACT: There were different performance between silkworms bred in Soppeng and Temanggung. There might be different proportion of parent stock and environment which causing polymorphism. This experiment was to know the genetic band pattern as the effect of the silkworm origin to the genetic characteristics. RFLP method was applied by using restriction enzymes of Pst1 and EcoR1. Based on DNA running by RFLP method using those enzymes, there was no different DNA slice fragment, either between breeding site or genetic polymorphism of each breeding site. This may be caused by the mutation happened in position DNA arrangement which was not recognized by the two enzymes.

Keywords: Silkworm, polymorphism, restriction enzymes

PENDAHULUAN

Di Indonesia, terdapat dua pusat pembibitan ulat sutera yang besar, yaitu di Temanggung Jawa Tengah dan di Soppeng Sulawesi Selatan (Yulianto, 2008). Keduanya merupakan ulat sutera F1 hibrida hasil persilangan ulat sutera Ras Jepang dan Ras Cina.

Terdapat perbedaan penampilan produksi antara ulat sutera F1 hibrid hasil persilangan antara ulat sutera ras Cina dengan ras Jepang yang dihasilkan oleh pusat pembibitan Temanggung dengan pusat pembibitan Soppeng (Nursita, 2012). Ditinjau dari sudut keragaman genetik, perbedaan penampilan produksi tersebut kemungkinan disebabkan oleh adanya variasi genetik atau polimorfisme. Walaupun dengan menggunakan ras tua yang sama, kemungkinan terdapat perbedaan pro-

porsi persilangan dan lingkungan yang biasa dikenal dengan polimorfisme (Reddy *et al.*, 1999; Staykova, 2008). Oleh karena itu, permasalahannya adalah adakah polimorfisme terjadi di antara kedua ulat sutera tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh asal pusat pembibitan terhadap karakteristik genetik (polimorfisme) kedua ulat sutera tersebut. Manfaat penelitian ini adalah sebagai bahan informasi bagi pihak-pihak yang berkepentingan untuk program pemuliaan ulat sutera. Hipotesisnya adalah terdapat perbedaan pola pita genetik antara ulat sutera hasil pembibitan di Temanggung dan Soppeng.

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan adalah

ulat sutera F1 hibrid hasil persilangan antara ulat sutera ras Cina dengan ras Jepang yang berasal dari pusat pembibitan Temanggung dan Soppeng pada stadia ulat instar V. Alat yang digunakan meliputi pinset, pipet, grinder, cawan petri, beaker glass, otoklaf, tisu, sentrifuge Hettich D7200, tabung sentrifuge, mikropipet, *microtube thin wall*, inkubator eppendorf 1,5 ml, yellow tips, blue tips, white tips, freezer, *magnetic stirrer*, aluminium foil, label, *electrophoresis chamber*, *Trans Illuminator UV*, *kuvet quart*, kamera polaroid, *power supply*, spektrofotometer UV-IVS, *timer*, *plastick wrap*, *Vortex* dan timbangan analitik.

Metode penelitian yang digunakan adalah observasi yaitu

pengambilan data dari ulat sutera yang dipelihara di tempat penelitian dan di laboratorium. Peubah yang diamati secara genotip adalah pola pita genetik. RFLP dipakai untuk mencari pola pita genetik. Analisa ini dilakukan melewati beberapa tahap, yaitu isolasi DNA thorax ulat sutera, uji kemurnian dan konsentrasi DNA menggunakan spektrofotometer, pemotongan DNA dengan metode RFLP memakai enzim restriksi PstI dan EcoRI dan penentuan matriks kesamaan berdasarkan hasil pemotongan DNA (Anonymous, 2008; Nguu *et al.*, 2006; Sianipar, 2003).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Nilai kemurnian isolat DNA ulat sutera dapat dilihat pada Tabel 1.

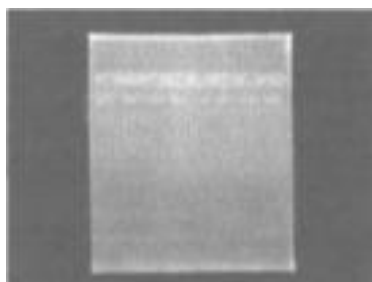
Tabel 1. Rata-rata nilai kemurnian dan konsentrasi DNA ulat sutera

Asal pembibitan	Jenis kelamin	Nilai kemurnian DNA	Konsentrasi DNA ($\mu\text{g} / \text{ml}$)
Temanggung	Jantan	$1,83 \pm 0,27$	1162,86
	Betina	$1,23 \pm 0,26$	576,67
Soppeng	Jantan	$2,7 \pm 0,26$	1054,29
	Betina	$2,02 \pm 0,2$	1148,57

Beberapa sampel mempunyai rasio $\lambda 260 / \lambda 280$ lebih kecil dari 1,8. Berarti kemungkinan terdapat kontaminan berupa protein atau cairan pengekstrak lainnya seperti fenol. Dari Tabel 1 dapat diketahui bahwa isolat DNA dapat dikatakan murni karena nilai rasio $\lambda 260 / \lambda 280$ berada pada kisaran 1,8 – 2,0 (Anonimus, 2008). Tingkat konsentrasi DNA menunjukkan jumlah molekul DNA yang didapat dari suatu isolat

DNA. Rata-rata konsentrasi yang diperoleh dalam penelitian ini tergolong sangat rendah sekali, yaitu 576,67–1162,86 $\mu\text{g} / \text{ml}$.

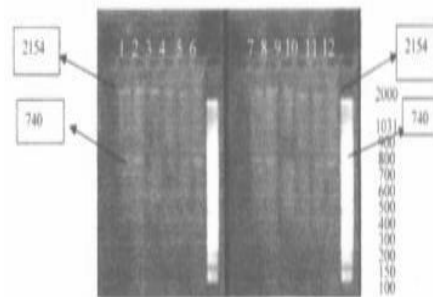
Hasil isolasi DNA dapat dilihat melalui metode elektroforesis menggunakan gel agarose 1% dengan EtBr (*Ethidium Bromide*) sebagai pewarna. Hasil elektroforesis dapat dilihat pada Gambar 1.



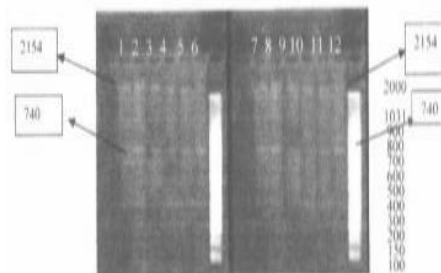
Gambar 1. Pita DNA dengan agarose 1%

Pada Gambar 2 dan 3 terlihat bahwa dengan menggunakan enzim restriksi Pst1 terpotong pita DNA untuk ulat sutera yang berasal dari pembibitan Soppeng dan Temanggung dengan fragmen 740 bp dan 2154 bp. Tidak ditemukan adanya perbedaan fragmen potongan DNA baik antar pusat pembibitan maupun polimorfisme genetik pada masing-masing pusat pembibitan.

Hal ini menunjukkan bahwa enzim Pst1 belum mampu menghasilkan variasi potongan DNA untuk spesies ulat sutera. Pahlevy (2003) pada penelitian sapi menyatakan bahwa dengan menggunakan enzim Pst1 hasil pemotongan terdapat fragmen DNA yang sama jumlah pasangan basanya namun ada juga yang berbeda jumlah pasangan basanya pada masing-masing sapi.



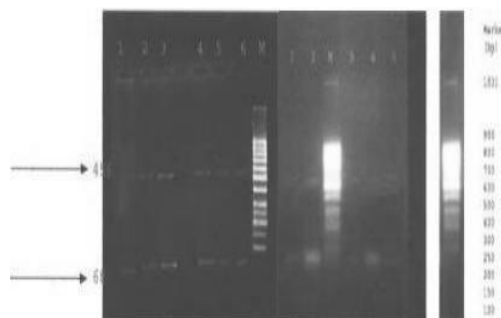
Gambar 2. Hasil potongan sampel DNA ulat sutera Soppeng 1-6 ulat sutera betina dan 7-12 ulat sutera jantan dengan enzim Pst 1



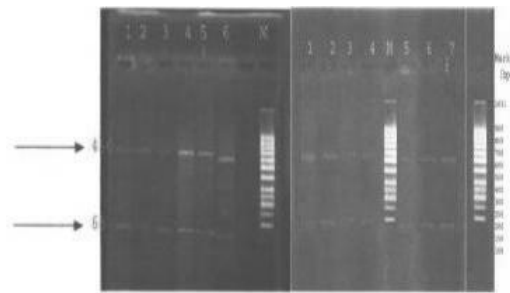
Gambar 3. Hasil potongan sampel DNA ulat sutera Temanggung 1-6 ulat sutera betina dan 7-12 ulat sutera jantan dengan enzim Pst 1

Enzim restriksi memiliki kemampuan spesifik terhadap spesies or-

ganisme dalam memotong DNA (Anonymous, 2008).



Gambar 4. Hasil potongan sampel DNA ulat Soppeng 1-6 ulat sutera betina dan 7-12 ulat sutera jantan dengan enzim EcoR1



Gambar 5. Hasil potongan sampel DNA ulat Temanggung 1-6 ulat sutera betina dan 7-12 ulat sutera jantan dengan enzim EcoR1

Gambar 4 dan 5 menunjukkan potongan pita DNA hasil RFLP menggunakan enzim restriksi EcoR1. Pita DNA hasil pemotongan enzim EcoR1 menunjukkan tidak adanya perbedaan antara ulat sutera yang ada di pusat pembibitan Sopeng dan Temanggung, demikian juga tidak ditemukan adanya polimorfisme pada masing-masing pusat pembibitan. Baik pada pusat pembibitan Sopeng maupun Temanggung diperoleh potongan dua fragmen DNA dengan berat molekul yang sama yaitu 65 bp dan 450 bp.

Mutasi genetik ulat sutera pada penelitian ini belum bisa dideteksi menggunakan teknik RFLP dengan enzim restriksi Pst1 dan EcoR1. Hal ini kemungkinan terjadinya mutasi berada posisi / susunan DNA yang tidak bisa dikenali oleh kedua enzim tersebut (Anonimous, 2008), dimana enzim Pst1 mengenai DNA dengan susunan CTGCA/G sedangkan EcoR1 pada posisi G/AATC (Weaver, 2001; Yamamoto *et al.*, 2008).

KESIMPULAN

Penggunaan enzim Pst1 dan EcoR1 yang digunakan dalam penelitian ini tidak terdeteksi adanya polimorfisme. Perlu ada penelitian lebih lanjut dengan menggunakan enzim restriksi lain yang bisa memotong DNA ulat sutera tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus, 2008. Introduction to recombinant genetics, Biology 350.
- Nguu, E.K., K.K. Okuda, K. Mase, E. Kosegawa and W.Hara., 2006. Molecular Linkage Map for the Silkworm, *Bombyx mori*, Based on Restriction Fragment Length Polymorphism of cDNA Clones. *J. of Insect Biotechnology and Sericulture* 74, 6-13.
- Nursita, I. W. 2012. Perbandingan produktivitas ulat sutera dari dua tempat pembibitan yang berbeda pada kondisi lingkungan pemeliharaan panas. *Jurnal Ilmu-ilmu Peternakan* 21(3):11-17.
- Pahlevy, R. M. 2003. Studi keragaman genetik dan kekerabatan melalui restriksi DNA pada sapi "Jawi" dan sapi "Galekan". Tesis, Program Pasca Sarjana UB. Malang.
- Reddy, K. D., E. G. Abraham and J. Nagaraju. 1999. Microsatellites in the silkworm, *Bombyx mori*: Abundance, polymorphism. and strain characterization. *Genom* vol 42.
- Sianipar, N. 2003. Penggunaan marker RFLP (Restricted Fragment Length Polymorphism) dalam pemuliaan tanaman. Disertasi. IPB. Bogor.

- Staykova, T. 2008. Genetically-determined polymorphism of non specific esterases and phosphoglucosutase in eight introduced breeds of silkworm, *Bombyx mori*, raised in Bulgaria. *J. of Insect Sci.* vol. 8 no. 8.
- Weaver, R. F. 2001. *Molecular biology*. Second Edition. McGraw Hill Companies. Inc. USA.
- Yamamoto, K., J. Nohata, K. K. Okuda, J. Narukawa, M. Sasanuma, S. Sasanuma, H. Minami, M. Shimomura, Y. Saetsugu, Y. Banno, K. Osoegawa, P. J de Jong, M. R. Goldsmith and K. Mita. 2008. A BAC-based integrated linkage map of the silkworm *Bombyx mori*, *Genome Biology* 9: R21.
- Yulianto. 2008. Langkah dan upaya perum Perhutani dalam mendukung perkembangan persuteraan alam. Makalah Workshop Persuteraan Alam Nasional tanggal 20-23 Agustus 2008 di Makassar.